

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
ŠUMARSKI FAKULTET
ŠUMARSKI ODSJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ
URBANO ŠUMARSTVO, ZAŠTITA PRIRODE I OKOLIŠA

ANTONIO ŽILIĆ


FIZIOLOŠKO - MORFOLOŠKE PRILAGODBE ŠUMSKOG DRVEĆA
NA NISKE TEMPERATURE

ZAVRŠNI RAD

ZAGREB (RUJAN, 2018.)

PODACI O ZAVRŠNOM RADU

Zavod:	Zavod za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku
Predmet:	Fiziologija bilja
Mentor:	Prof. dr. sc. Željko Škvorc
Asistent-Znastveni novak:	Doc. dr. sc. Krunoslav Sever
Student:	Antonio Žilić
JMBAG:	0068212804
Akad. godina:	2017./2018.
Mjesto, datum obrane:	Zagreb, 21. rujan 2018.
Sadržaj rada:	Slika: 4 Navoda literature: 15
Sažetak:	Niske temperature predstavljaju jedan od okolišnih čimbenika koji može imati vrlo nepovoljan utjecaj na biljke. Različite biljne vrste različito su osjetljive na niske temperature. To je prije svega rezultat genetske adaptacije koja se manifestira kroz razlike u fiziološkim funkcijama i morfološkoj građi između bolje i lošije prilagođenih vrsta i/ili jedinki iste vrste na niske temperature. U radu će se obraditi nekoliko konkretnih primjera fiziološko-morfološke prilagodbe šumskog drveća na niske temperature.

	<p style="text-align: center;">IZJAVA O IZVORNOSTI RADA</p>	OB ŠF 05 07
		Revizija: 1
		Datum: 21.9.2018.

„Izjavljujem da je moj *završni rad* izvorni rezultat mogega rada te da se u izradi istoga nisam koristio drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni“.

vlastoručni potpis

Antonio Žilić

U Zagrebu, 21.9.2018.

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
1.1. Temperatura.....	1
1.2. Utjecaj temperature na biljke	3
1.3. Niske temperature – hladnoća i mraz	4
1.4. Prilagodbe biljaka na niske temperature	6
1.5. Dormantnost biljaka	7
1.6. Dormantnost pupova	7
1.7. Dormantnost sjemena.....	8
1.8. Dormantnost lukovica i gomolja	9
1.9. Regulacija dormantnosti	9
Pupovi.....	9
Sjeme.....	10
Gomolji i lukovice	10
2. OBRADA TEME.....	11
2.1. AKLIMATIZACIJA FOTOSINTEZE NA MRAZ TIJEKOM PREZIMLJAVANJA HRASTA CRNIKE (<i>Quercus ilex</i>) KOJI RASTE U SREDNJOJ EUROPI – KRONIČNA FOTOINHIBICIJA.....	11
2.2. OPORAVAK OD EMBOLIJE KSILEMA	12
2.3. BIOKEMIJA TOLERANCIJE NA EKSTREMNO NISKE TEMPERATURE.....	12
Gomilanje ugljikohidrata pri niskim temperaturama.....	13
Lipidi i masne kiseline.....	14
Aminokiseline i poliamini	14
Proteini	15
Ultrastrukturalne promjene	15
3. ZAKLJUČAK.....	17
4. LITERATURA.....	19

1. UVOD

Botanika je znanost koja proučava sve pojave života u biljaka. Naziv dolazi od grčke riječi *botane* što označava grmlje, travu, bilje koje raste na livadama. Kroz dugo povijesno razdoblje botanika se razvijala u kompleksnu, multidisciplinarnu znanost koja u svom opsegu ujedinjuje niz različitih disciplina (Trinajstić, 1978; Franjić i dr., 2008).

Botaničke discipline koje se bave temom ovog završnog rada su:

- Fiziologija koja proučava sve procese u biljnom tijelu tijekom života biljke
- Ekologija koja proučava odnos biljke prema okolišu, tj. živoj i neživoj prirodi

Na rast i razvoj biljaka djeluju brojni vanjski činitelji koje dijelimo u dvije kategorije:

1. ENDOGENI činitelji u koje ubrajamo fotosintezu, disanje i biljne hormone
2. EGZOGENI činitelji u koje ubrajamo temperaturu, svjetlost, vlagu i kemijske tvari.

1.1. Temperatura

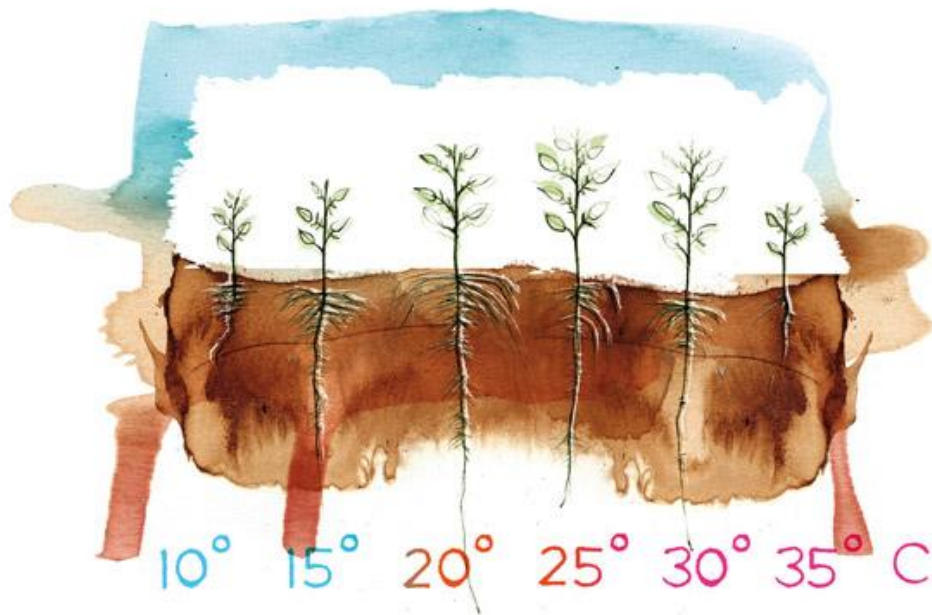
Značajke biljnog organizma određene su genetski no u znatnoj mjeri određene su i utjecajem različitih okolišnih čimbenika. Ti čimbenici mogu utjecati na to kako će visoko izrasti neko stablo, kakav će imati habitus, kada će ući u reproduktivnu fazu, kakav će biti urod sjemena i sl. Najvažniji okolišni čimbenici koji djeluju u tom pogledu jesu temperatura, intenzitet i trajanje svjetlosti (Pevalek-Kozlina, B., 2003).

Temperatura predstavlja odlučujući okolišni čimbenik za tok rasta biljaka. Biljke su iznimno osjetljive na temperaturu i u stanju su reagirati na promjene od samo 1 °C. Krivulja rasta obzirom na temperaturu ima minimum, optimum i maksimum. Temperaturni optimum rasta i razvoja biljaka možemo smatrati područje u kojem je brzina raznih fizioloških procesa usklađena. Kao optimum temperature navode se vrijednosti od 10-35 °C.

Pojedini organi biljke mogu imati različite optimume za svoj rast i razvoj npr. trave koje rastu i pri minimalnim niskim temperaturama koje su štetne za istu biljku u fazi cvjetanja. Minimalne, maksimalne i optimalne temperature za rast pojedinih biljnih vrsta mogu se jako razlikovati (Škvorc i dr., 2013).

Četiri su temperaturna praga važna za život biljaka:

1. apsolutni minimum preživljavanja - najniža temperatura pri kojoj biljka može podnijeti hladnoću
2. vegetacijska nulta točka - kad stanice postanu aktivne i počinje rast biljke; dok se temperatura nalazi ispod nulte točke, biljka živi ali njezini vegetativni organi miruju
3. najpovoljnija temperatura (optimum)
4. apsolutni maksimum preživljavanja - stanice i tkivo se suše, uvenuće biljke - neke biljke prisilno zriju ako temperatura u određeno doba godine prijeđe određeni prag



Slika 1. Temperaturni optimum biljke

(izvor: http://www.cannagardening.ca/root_zone_temperature_and_plant_health)

1.2. Utjecaj temperature na biljke

Utjecaj temperature važan je za brojne procese u životu biljaka. Životna aktivnost biljke i biokemijske reakcije ovise o aktivnosti stanica, a sama aktivnost stanica ovisna je o temperaturi.

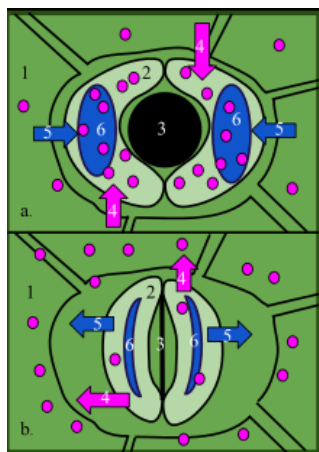
Osim toga o temperaturi ovise apsorpcija vode te mineralnih soli preko korijenja zatim cirkulacija sokova u nadzemnom dijelu biljke i upijanje CO₂. Ukoliko temperatura pređe donju ili gornju granicu kritične vrijednosti dolazi do ireverzibilnih promjena u stanicama biljke koje mogu dovesti do venuća cijele biljke.

Temperatura nije jednaka u svim stanicama biljke već ovisi i o temperaturi sredine koja okružuje određeni dio biljke, o apsorpciji i emisiji zračenja, potrošnji ili oslobađanju latentne topline na dijelu biljke i slično.

Utjecaj niskih temperatura dovodi do brojnih promjena u načinu funkcioniranja biljke. Pod utjecajem niskih temperatura usporen je metabolizam biljke koji stvara energiju. Iz navedenog razloga vrlo je važno da biljka akumulira ugljikohidrate koji u metabolizmu biljke imaju vrlo važnu ulogu. Na brzinu kolanja asimilata u biljci utječe temperatura na način što je temperatura niža smanjuje se viskoznost tekućina i usporava se tok asimilata.

Temperatura ima važan utjecaj i na disanje biljaka. Najniža temperatura pri kojoj biljna tkiva još mogu disati je oko -10 °C, iako igličasti listovi četinjača i neka druga tkiva otporna na mraz mogu disati i na temperaturama nižima od -20 °C.

Pri niskim temperaturama (oko 0 °C) dolazi do zatvaranja puči. Zatvaranjem puči onemogućena je intenzivna transpiracija koja hladi list i sprječava pregrijavanje biljke (Pevalek-Kozlina, 2003).



Slika 2. Zatvaranje puči (izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Transpiracija>)

1.3. Niske temperature – hladnoća i mraz

Snižavanjem temperature smanjuje se i brzina kemijskih reakcija, a krajnji rezultat je ravnotežno stanje u kojem se oslobađa energija. Za hladna vremena manje je dostupne energije, a smanjeno je primanje i vode i mineralnih hranjiva, manja je biosinteza te smanjena asimilacija i reduciran rast.

Prva reakcija na stres niskih temperatura je zaustavljanje strujanja citoplazme, a ono se izravno povezuje sa stanjem energije koja dotječe uglavnom preko respiratornog procesa kao i na pristupačnost visokoenergetskog fosfata (ATP).

Prekid fotosinteze je drugi korak koji uslijedi vrlo brzo nakon prvog stupnja oštećenja i vrlo rijetko se brzo obnavlja nakon porasta temperature. Jaka radijacija odmah nakon zahlađenja uzrokuje jako oštećenje pigmentnog sustava kloroplasta i odgađa ili čak spriječava obnavljanje procesa fotosinteze.

Utjecaj niskih temperatura na smrtnost stanica vezana je na stvaranje lezija koje nastaju destrukcijom biomembrana i prekidanjem opskrbe stanica energijom.

Oštećenje biljaka osjetljivih na hladnoću

Oštećenja se odvijaju preko poremećaja i prekidanja funkcije protoplazme. Pojedine stanične funkcije se prvo zaustavljaju i prekidaju a zatim se ireverzibilno poremećuje permeabilnost membrane. Primarni utjecaj niskih temperatura je na tranziciju lipidnog sloja membrane koji

prelazi iz fluid kristalnog stanja u gel stanje, a membranski protein se lateralno odvaja. Selektivnost membrane je smanjena, nema kontrole izmjene metabolita i iona između organela stanice te stanični sadržaj istječe van. Obzirom da su stanični procesi u disharmoniji, a dotok energije smanjen, napreduju respiracijski procesi i dolazi do nakupljanja toksičnih tvari te stanica na kraju odumire.

Smrzavanje i štete od smrzavanja

Smrzavanje biljaka nastaje uslijed tvorbe kristala leda koji prvo nastaju u organima ili tkivima koja se prvo ohlade a to su periferni provodni sustavi (žile). Tvorba leda se potom brzo širi i na druge dijelove, prvenstveno intercelularne prostore, posebice ako je hidratacija stanice velika. Širenje leda smanjuje se ukoliko dođe do diskontinuiteta koji nastaje pojavom zračnih jastuka kao i u stanicama koje imaju kutiniziranu ili suberiniziranu staničnu stijenu. Smrzavanje protoplasta nastaje ako stanica sadrži većim dijelom vodu, a nastanak leda u protoplazmi rezultira njenim uginućem. Ekstracelularno stvaranje kristala leda ima na neki način svojstva suhog zraka. Naime, javlja se razlika u tlakovima koji je viši u mjestu stvaranja leda nego u plazmi te se voda iz plazme kreće van u intercelularni prostor što uzrokuje kontrakciju plazme i povećanje koncentracije tvari u citoplazmi odnosno povećava otpornost na smrzavanje. Kretanje vode odvija se sve dok ne dođe do uspostave termodinamičke ravnoteže između ledenog pojasa i stanične citoplazme (Škvorec i dr., 2013).

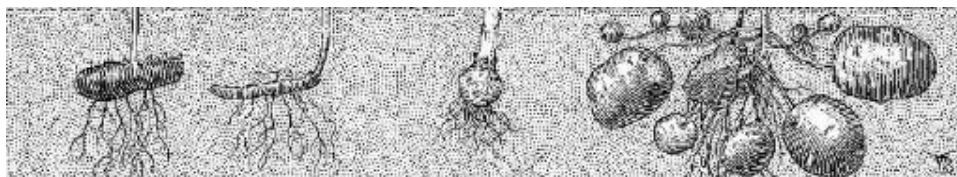
Temperature oko 0 °C imaju isti učinak kao i dehidracija – tijekom stresa smrzavanja i dehidracije protoplazme, koncentracija iona u citoplazmi ekstremno se povećava. Pored toga nastaju visoke koncentracije organskih kiselina koje iskazuju toksičan efekt i prekida se aktivnost enzima. U tim situacijama biomembrane se smanjuju uslijed osmotskog djelovanja i preko reduciranog volumena, lipidi membrane se pokidaju, proteini disociraju, a aktivnost ATP-a se drastično smanjuje. Pokazatelj destrukcije membrane izazvane smrzavanjem je nestanak plastocijanina iz tilakoidne membrane. Na kraju se toliko vode isušuje iz stanice da citoplazma dehidrira, a struktura protoplazme je potpuno ireverzibilno uništena.

1.4. Prilagodbe biljaka na niske temperature

Temperature za rast pojedinih biljnih vrsta mogu se jako razlikovati. Tropske biljke jako su osjetljive na niske temperature, ali biljke umjerenog i polarnog područja, zahvaljujući različitim prilagodbama, otporne su na hladnoću. Jedna od takvih prilagodbi je dormantnost biljaka (Škvorc i dr., 2013).

Dormancija je stanje mirovanja biljke, prekidanje njenog rasta, usporavanje fizioloških procesa radi preživljavanja nepovoljnih okolišnih uvjeta. Dormantnost je biološki vrlo važna je predstavlja obrambeni mehanizam biljke pomoću kojega se one adaptiraju na kolebanja u temperaturi, pogotovo na niske zimske temperature ili na vruća i suha ljetna razdoblja.

Vegetativni vrh prestaje aktivno rasti i u jesen su pokriveni ljuskama. Uloga ljusaka je zaštitna, a sama otpornost biljke na hladnoću ovisi o određenim karakteristikama citoplazme. Zimi, kada je tlo smrznuto i nema mogućnosti primanja vode, ljuske štite biljku od gubitka vode. Listovi listopadnih vrsta drveća otpadaju i na taj način biljke postaju otpornije na ekstremne temperature. Trajnice se prilagođavaju na način da preživljavaju u obliku pupa, gomolja ili lukovice. U tom obliku prezimljuju ispod površine tla i u proljeće iz njih izraste novi izdanak. Jednogodišnje biljke preživljavaju u obliku sjemeni. U nekih vrsta sjemenke prokliju odmah nakon što padnu na tlo, dok u mnogih vrsta sjemenke ostaju u tlu sve dok sljedećeg proljeća ne nastupe uvjeti povoljni za klijanje. U usporedbi s ostalim biljnim dijelovima, sjemenke su mnogo otpornije na hladnoću jer sadrže znatno manje količine vode (sjemenke nekih vrsta mogu preživjeti i temperature od -234°C).



Slika 3. Prezimljavanje u obliku podanka, lukovice ili gomolja

(izvor: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=21680>)

1.5. Dormantnost biljaka

Kada se govori o dormantnosti važno je razlikovati:

- Egzogenu ili prisilnu dormantnost koja je uvjetovana nepovoljnim vanjskim utjecajem
- Endogenu ili spontanu dormantnost koja je inducirana unutrašnjim faktorima

Endogena dormantnost pupova kod drvenastih vrsta često je kontrolirana duljinom dana. Duži dani poboljšavaju vegetativni rast dok kraći dani dovode do prestanka rasta te stvaranja mirujućih pupova osobito kod sadnica koje ne uđu u stanje dormantnosti do rujna.

1.6. Dormantnost pupova

Pupovi starijih stabala ulaze u dormantnost dolaskom srpnja-kolovoza. Općenito, pupovi starijih stabala ranije ulaze u stanje dormantnosti. Npr. vrsta *Malus sylvestris* ulazi u dormantnost, ovisno o varijetetu, od sredine kolovoza do početka rujna. Vrste *Tilia cordata* i *Viburnum lantana* ulaze u dormantnost jako rano, obično u lipnju; dok vrste *Acer pseudoplatanus* i *Acer negundo* ulaze jako kasno, obično u rujnu.

Postupno odstranjivanje listova na izbojcima predstavlja najjednostavniji način istraživanja na koji način biljke ulaze u endogenu dormantnost.

Ako spavajući pupovi počnu rasti znači da su bili u u stadiju ljetne dormantnosti ili predormantnosti. Takva je dormantnost uzrokovana korelativnom inhibicijom listova. Pupovi kasnije ulaze u fazu prave ili zimske dormantnosti.

Razdoblje niskih temperatura potrebno je prilikom izlaska pupova iz stanja dormantnosti. Niske temperature utječu na početak ekspresije gena te postupno dovode do obnavljanja metabolizma u popu i završetka dormantnosti. Za potpuno savladavanje dormantnosti potrebno je oko 260 – 1000 sati na temperaturi raspona od 0 do 5°C.

Vrlo je važno da vrste koje su prilagođene na klimu sa ponovljenim vrućim i suhim razdobljima kao što je npr. vrsta *Armeniaca vulgaris*, da ne pupaju pri visokim temperaturama jer ih iste mogu oštetiti. Takve vrste trebaju pupati pri temperaturi od 9 °C tijekom

postdormancije. Ukoliko se temperatura povisi, pupanje će biti inhibirano te dolazi do indukcije sekundarne dormantnosti.

Za razliku od gore navedenih vrsta, one vrste koje su adaptirane na klimu sa ponovljenim hladnim periodima potrebno je paziti da ne počnu rasti pri niskim temperaturama.

1.7. Dormantnost sjemena

Sjemenje je kao i pupovi također sposobno za dormantnost. Sjeme brojnih biljnih vrsta ne klije odmah nakon što se odvoji od matične biljke, čak i ako je u stanju bubrenja i ako je izloženo uvjetima okoliša koji su pogodni za klijanje.

Neposredno prije zime kada su uvjeti okoliša nepovoljni pojava dormantnosti sprječava klijanje sjemena. Na taj način sadnice ne izrastaju te samim time ne dolazi do njihova uništenja uzrokovana nepovoljnim klimatskim uvjetima.

Postoji sjeme koje u takvim uvjetima ne klije radi dormantnosti kao što je npr. sjeme lijeske i jasena, no međutim postoji sjeme koje ne klije radi tvrde i/ili vodootporne sjemene ljuske kao to je npr. breskva, orah, šljiva i slično.

Kao najčešći razlog dormantnosti sjemena navodi se prisutnost velike razine tvari inhibirajuće prirode. Takve tvari ometaju ekspresiju gena odnosno blokiraju transkripciju i translaciju. Osim navedenog ove tvari mogu probuditi nespecifične inhibirajuće enzime.

Sjeme koje je suho može preživjeti temperature ispod nule. Sjeme u vlažnom tlu koje je manje otporno na mraz period niskih temperatura može preživjeti zahvaljujući visokom sadržaju prirodnih inhibirajućih tvari. Takve tvari sprečavaju klijanje i postupno su enzimatski degradirane tijekom zime.

1.8. Dormantnost lukovica i gomolja

Dubina dormantnosti gomolja i lukovica ovisi o smanjenju razine giberilina. Kod nekih lukovica kao što su npr. tulipan i zumbul dormantnost je povezana s visinom apcisinske kiseline.

1.9. Regulacija dormantnosti

Pupovi

ABA – apcisinska kiselina prvi je pronađeni hormon čija primjena na pupove inducira njihovu dormantnost.

Prskanjem listova nekih drvenastih vrsta kao što je trešnja, u kolovozu, također možemo povećati razinu urođenih inhibirajućih tvari i smanjiti razinu endogenih giberilina u pupovima. Na takav način poboljšava se početak endogene dormantnosti u kolovozu i odgodi se njihovo otpuštanje u siječnju. Ovako odgođeno klijanje pupova u proljeće može spriječiti njihovo oštećenje u proljeće.

Egzogeno nanese giberlini mogu smanjiti endogenu dormantnost pupova. Egzogeno nanesen etilen u nešto nižoj koncentraciji od optimalne može prekinuti dormantnost pupova zato što se iznos otpuštenog etilena povećava kako se smanjuje dormantnost. Kada je etilen nanesen na pupove, sposoban je povećati razinu endogenih giberilina. Međutim u isto vrijeme, može biti iskazana sposobnost etilena da smanji razinu inhibirajućeg auksina, čija egzogena aplikacija povećava dormantnost.

Sjeme

Postupak koji se koristi za uklanjanje inhibirajućih efekata na klijanje naziva se stratifikacija. Stratifikacijom nazivamo postupak izlaganja sjemenki niskim temperaturama. Sjeme se najčešće drži u mokrom pijesku na temperaturi od 2-8 °C nekoliko tjedana. Hladnoća pomaže nabubrijelom sjemenu, a ne onom koje je suho.

Vrste koje trebaju hladnoću za prekid dormantnosti sjemena su: *Acer*, *Corylus*, *Crataegus*, *Fagus*, *Fraxinus*, *Picea*, *Pinus* itd. Postoje vrste kod kojih hladnoća nije neophodna za klijanje no međutim ukoliko su izložene niskim temperaturama klijanje je potpomognuto (npr. kod vrste *Pinus sylvestris*).



Slika 4. Stratifikacija sjemena (izvor: <http://www.sumfak.unizg.hr/Odsjek.aspx?mhID=9&mvID=529>)

Gomolji i lukovice

Dormantnost gomolja i lukovica prekida se nakon tretmana gomolja giberilinima. Na taj način u ljeto je omogućena sadnja gomolja koje smo izvadili iz tla.

Dormantnost koja je povezana s viskom razinom abscisinske kiseline može biti prekinuta jedino hladnim tretmanom. Hladnoća aktivira enzimatski sustav degradirajući inhibitore.

2. OBRADA TEME

2.1. AKLIMATIZACIJA FOTOSINTEZE NA MRAZ TIJEKOM PREZIMLJAVANJA HRASTA CRNIKE (*Quercus ilex*) KOJI RASTE U SREDNJOJ EUROPI – KRONIČNA FOTOINHIBICIJA

Znanstvenici sa Odjela za ekologiju, evoluciju i raznolikost te Centra za istraživanje klime i bioraznolikosti u Frankfurtu, Njemačkoj proveli su studiju gdje je cilj bio analizirati izravni učinak niskih temperatura i temperatura ispod nule na hrast crniku u srednjeeuropskim uvjetima tijekom zimskog perioda (Pflug i Brüggemann, 2012).

Poznato je da vrsta *Q. ilex* u Sredozemlju koristi obično blage zimske uvjete za kontinuiranu fotosintetsku aktivnost, kad god to klimatski uvjeti dopuštaju. Pretpostavlja se da vrsta *Q. ilex* može tolerirati ne samo povremene pojave mraza kao na Mediteranu već i ozbiljne i dugotrajne temperature ispod nule pomoću takozvanog mehanizma kronične fotoinhibicije, bez da to dovodi do daljnjeg oštećenja.

U svrhu proučavanja, analiziran je učinak fotosinteze u dva različita uvjeta na eksperimentalnim plantažama – uvjet uz pojavu mraza te uvjet bez mraza i smrzavanja, tokom neuobičajeno teške zime (2009./2010. godine) na glavnoj dolini rijeke Rajne pomoću takozvanog OJIP testa. OJIP analiza, koja istražuje promjene fotokemijskog učinka fotosustava II, koristi se kao mjera osjetljivosti biljke na stres. Tijekom produženih razdoblja mraza razvijena je kronična fotoinhibicija, koja je trajala do kraja razdoblja mraza. Gotovo su sve biljke preživjele minimalne temperature od -16 do -18 °C, a njihov fotosintetski aparat oporavio se tijekom kasne zime. Detaljna studija o temperaturnoj ovisnosti klorofilnih (chl) fluorescentnih parametara OJIP testa pokazala je statistički značajne korelacije između minimalne temperature i maksimalnog kvantnog prinosa primarne fosforne kemikalije (Fv / Fm), brzine apsorpcije / reakcijskog centra (ABS / RC), brzinu raspršivanja / reakcijski centar (DI 0 / RC) i brzinu prijenosa elektrona / reakcijsko središte (ET 0 / RC) kao i stanje duboke oksidacije (DES) ksantofilskih pigmenata (Pflug i Brüggemann, 2012).

Jako osvjetljenje dovodi veliki izvor energije za biljku kojeg ona ne može u cijelosti iskoristiti pa se jedan dio javlja kao fluorescencija a jedan dio u vidu isijavanja topline. Posljedica je smanjena asimilacija = Fotoinhibicija (Škvorc i dr., 2013).

2.2. OPORAVAK OD EMBOLIJE KSILEMA

Klimatske temperature određene su različitim sezonskim temperaturama s velikim i često nepredvidljivim vremenskim uvjetima tijekom bilo kojeg od četiri godišnja doba. Da bi uspjeli u takvim klimatskim uvjetima, drveće mora izdržati hladnu zimu i pojavu smrzavanja tijekom bilo kojeg doba godine. Fiziološki mehanizmi koje su stabla usvojila za izbjegavanje i toleranciju temperature smrzavanja uključuju hladnu aklimatizaciju u jesen, razdoblje mirovanja tijekom zime (bez lišća kod listopadnih stabala), te održavanje određene tolerancije smrzavanja za vrijeme aklimatizacije u rano proljeće (Vitasse i dr., 2014).

Posljedica zimske sezone u umjerenim područjima je zimska embolija ksilema koja se javlja kod većine kritosjemenjača. Embolija ksilema zimi je inducirana ciklusima smrzavanja i odmrzavanja. Kada se voda zamrzne, otopljeni zrak isparava, uzrokujući mjehuriće zraka u provodnim cijevima dok se led otapa. Međutim, nema dokaza o trajanju prekida provodnih cijevi jer je hidraulički kontinuitet naizgled ponovno uspostavljen kao kod vrste *Pinus contrata* (usukani bor).

Stvaranje novih provodnih elemenata vraća hidrauličku vodljivost, što je presudno u prstenasto poroznih vrsta koje nove provodne elemente stvaraju prije otvaranja pupova kao kod vrsta iz roda *Quercus*, dok druge, difuzno porozne vrste to čine nakon otvaranja pupova kao npr. vrsta *Fagus sylvatica*.

2.3. BIOKEMIJA TOLERANCIJE NA EKSTREMNO NISKE TEMPERATURE

Sezonski ciklusi aklimatizacije i deaklimatizacije uključuju velike promjene u ekspresiji gena, biokemiji i staničnoj strukturi. To je dokumentirano u brojnim studijama koje su promatrale te promjene tijekom aklimatizacije i deaklimatizacije u prirodnim i kontroliranim uvjetima okoline. Ove vrste studija su identificirale promjene u razinama različitih spojeva koji su općenito konzistentni prilikom aklimatizacije na različite razine tolerancije na niske temperature i mogu pomoći u identificiranju važnih biokemijskih i fizikalno-kemijskih procesa koji omogućuju stanicama da prežive uslijed niskotemperaturnog stresa (Strimbeck i dr., 2015).

Gomilanje ugljikohidrata pri niskim temperaturama

Jedna od najkonzistentnijih promjena u biljkama tijekom aklimatizacije na svim razinama tolerancije na niske temperature je nakupljanje šećera, osobito saharoze i njenih derivata, rafinoze i stahioze, obično dobivenih pretvorbom iz pohranjenih rezervi škroba. Općenito je prihvaćeno da šećeri imaju značajnu ulogu u toleranciji biljaka na niske temperature (Strimbeck i dr., 2015).

Relativno malo studija provedeno je kod ispitivanja tolerantnosti drvenastih vrsta na ekstremno niske temperature koje se odnose na mjerenje razine ugljikohidrata i ispitivanja kvantitativne procjene tolerancije na niske temperature.

U sezonskim istraživanjima vrste *Robinia pseudoacacia* (obični bagrem) i *Morus bombycus* (kineski dud), proizlazi kako se saharoza nakupila u ranim aklimatizacijama na oko -25°C, ali se izravnila jer aklimatizacija nastavlja snižavati temperaturu, dok deaklimatizacija povećava temperaturu u proljeće. Rezultati za saharozu bili su slični kod iglica vrste *Pinus strobus* (američki borovac), dok je rafinoza bila usko povezana sa stjecanjem i održavanjem tolerancije na ekstremno niske temperature. Koncentracije rafinoze i stahioze također su snažno povezane sa preživljavanjem niskih temperatura tijekom aklimatizacije kod vrste *Populus tremuloides* (američka jasika). U jednoj studiji koja nema izravno mjerenje tolerancije na niske temperature, koncentracije rafinoze u kori i drvu vrste *Cornus sericea* (drijen) povećale su se u jesen, dok su zabilježene koncentracije sukroze bile relativno niske u proljeće. U dvogodišnjoj studiji koja također nema podatke o toleranciji na niske temperature, koncentracija rafinoze u vrstama *Pinus strobus* i *Juniperus virginiana* (virginijska borovica) snažno su porasle i ostale visoke tijekom zimskih mjeseci, dok su razine saharoze fluktuirale očitim odgovorom na temperaturu okoline tijekom zime. Koncentracije oba šećera bile su znatno veće u ove dvije sjeverne vrste u usporedbi sa manje tolerantnim vrstama na niske temperature, neke vrste roda *Pinus* i *Cupressocyparis*. U iglicama od šest tolerantnih vrsta crnogorice, koncentracije rafinoze izmjerene na 13 uzoraka bile su u snažnoj korelaciji sa srednjom vrijednosti temperature (T_m) i amplitude povećanog relativnog propuštanja elektrolita (REL_{max}), dok je povezanost sa stahiozom bila nešto slabija. Povezanost sa saharezom, glukozom i fruktozom također su bile slabe. Rafinoza i stahioza sadržavale su 25-50% ukupnog izmjerenog šećera u potpuno prilagođenim iglicama u obje tolerantne skupine na umjereno niske i ekstremno niske temperature. Opći rezultat koji proizlazi iz tih studija je

da rafinoza i stahioza imaju vrlo važnu ulogu u toleranciji drvenastih vrsta na niske temperature dok saharoza nema toliki utjecaj.

Lipidi i masne kiseline

Poput akumulacije šećera, smanjenje zasićenosti masnih kiselina i promjene u sastavu lipida su direktno povezane s aklimatizacijom kako na temperaturi hlađenja tako i na temperaturi smrzavanja. U vrstama tolerantnim na ekstremno niske temperature ukupni sadržaj lipida i fosfolipida povećao se za vrijeme aklimatizacije, kao kod običnog bagrema (*Robinia pseudoacacia*) i kineskog duda (*Morus bombycus*). Povećanje koncentracije fosfolipida također je zabilježeno kod vrsta iz roda *Populus* sp. (topole).

Općenito, sastav masnih kiselina mijenja se prema tipovima više nezasićenih i dugih lanaca, za koje se smatra da pomažu održati fluidnost membrane te spriječiti ili smanjiti temperaturu kod promjene membranskih faza. Ovi tipovi promjena zabilježeni su u nekoliko tolerantnih vrsta na srednje niske temperature (-40°C do -60°C) i ekstremno niske temperature (< -60°C) uključujući vrste *Populus* sp., *Morus bombycus*, *Picea abies*, *Pinus sylvestris*, *Pinus strobus* te *Picea obovata*.

Promjene u sastavu lipida manje su konzistentne. U plazmatskim membrana vrste *Morus bombycus* povećana je koncentracija fosfatidiletanolamina (cefalin, PE) a smanjena je koncentracija fosfatidilkolina (PC) prilikom aklimatizacije, dok su u ukupnim lipidima iz vrsta roda *Populus* sp. obje vrste fosfolipida povećane, a PC je pokazao veći porast. Tijekom aklimatizacije, u kloroplastima i tilakoidnim membrana vrste *Picea abies* zabilježeno je povećanje fosfolipida na trošak galaktolipida, ali su tilakoidne membrane vrste *Pinus strobes* pokazale suprotne promjene. Povećanje fosfolipida, osobito fosfatidilkolina (PC), eksperimentalno je povezano sa stabilnošću membrane i preživljavanjem tijekom zamrzavanja liposoma (liposomi se obično sastoje od fosfatidilkolinom – obogaćenih fosfolipida) i protoplasta.

Aminokiseline i poliamini

Povećanje aminokiselina i poliamina predstavlja još jedan dosljedan odgovor na niske temperature i druge abiotičke čimbenike stresne za biljke. Ovi spojevi općenito ipak djeluju

kao kompatibilni otopljeni sastojci koji se mogu akumulirati pri visokim koncentracijama za osmotsku prilagodbu bez narušavanja stanične funkcije. Različite studije tolerantnih biljaka na ekstremno niske temperature pokazale su povećanje ovih spojeva tijekom aklimatizacije. Prolin i glicin betain su obično povezani s tolerancijom zeljastih biljaka na niske temperature. Prolin i razne druge aminokiseline povećavaju se tijekom aklimatizacije u drvenastim vrstama, dok triptofan pokazuje konzistentno povećanje kod tolerantnih vrsta četinjača na ekstremno niske temperature, *Picea glauca* (kanadska smreka), *Picea mariana* (crna smreka), *Pinus resinosa* (američki crveni bor) i *Picea obovata* (sibirska smreka).

Orniti i njegovi poliaminski derivati, putrescin i spermidin često se povećavaju kao odgovor na stres. Uočeno je povećanje putrescina i ornitina tijekom aklimatizacije kod vrsta *Pinus sylvestris*, *Populus* sp. i *Picea obovata*.

Proteini

U parenhimskim stanicama stabljike kod vrste *Robinia pseudoacacia*, sadržaj topljivih bjelancevina gotovo se udvostručuje tijekom aklimatizacije te ostaje na visokim razinama tijekom zimskih mjeseci i ponovno se smanjuje tijekom deaklimatizacije. To povećanje može uključivati enzime i regulacijske proteine koji su uključeni u gore opisane biokemijske procese te proteine sa signalnim, regulatornim, zaštitnim ili restaurativnim funkcijama za toleranciju ili oporavak od niskotemperaturnog stresa te kod drugih zimskih utjecaja kao što je oksidacijski stres. Proteinski ekstrakti mogu se prikazati za diferencijalnu ekspresiju koristeći proteomske metode bazirane na 2D-gelu, a njihovi podskupovi mogu se identificirati ili razvrstati različitim metodama spektrometrije.

Ultrastrukturalne promjene

Ultrastrukturalna reorganizacija tijekom niskotemperaturne aklimatizacije opisana je u iglicama ili kori nekoliko umjereno do ekstremno niskotemperaturnih tolerantnih vrsta. U mezofilnim stanicama iglica vrste *Picea abies*, središnja vakuola je zamijenjena brojnim malim mjehurićima, kloroplasti i drugi organeli skupljaju se zajedno na jednom kraju stanice, a granule škroba nestaju. U potpuno aklimatiziranom kloroplastu vrste *Picea abies*, tilakoidne membrane se razdvajaju i postaju neorganizirane, s malim ograncima i unutarmembranskim

plastoglobulima. Slične promjene u distribuciji i strukturi kloroplasta javljaju se u iglicama vrste *Abies balsamea* (balzamasta jela) i *Pinus sylvestris* (bijeli bor) u prirodnim i umjetnim uvjetima aklimatizacije. Tijekom rane aklimatizacije u zrakastim parenhimskim stanicama vrste *Populus x canadensis* (kanadska topola), velike vakuole prisutne u ljeto nestaju a vakuole za pohranu proteina i elaioplasti (skladišta rezervi masti i ulja) se akumuliraju. Kasnije u tom procesu škrob pohranjen u brojnim amiloplastima potpuno nestaje, dok se na staničnoj periferiji razvija gusta agregacija vezikularnog i cisternog endoplazmatskog retikuluma (ER). U tkivima kore vrste *Robinia pseudoacacia*, plazmatska membrana se raspršuje i čini brojne male vezikule a ER također postaje mjehuričast. Općenito slične promjene nastaju u tolerantnim vrstama na umjereno niske temperature kao vrsta *Prunus persica* (breskva), u kortikalnim i ksilemskim parenhimskim stanicama. Iako postoje razlike u tumačenju podrijetla različitih vezikularnih struktura, čini se jasnim da aklimatizacija na niske temperature uključuje masovnu reorganizaciju staničnih membrana, uključujući tilakoide. Nestanak škrobnih granula općenito je konzistentan s konverzijom škroba u šećer zabilježenim u biokemijskim studijama a barem u nekim tipovima stanica dolazi do porasta struktura za pohranjivanje proteina i lipida.

3. ZAKLJUČAK

Do polovice XX. stoljeća živi se svijet dijelio na dva velika carstva: biljno (*Plantae*) i životinjsko (*Animalia*). Biljke su do danas »osvojile« najveći dio kopna, a u moru do dubine do koje im dopire dovoljno svjetlosti za fotosintezu. I u pustinjama, koje izgledaju beživotno, i u hladnim područjima, nalazimo biljke prilagođene vrlo surovim uvjetima.

Kao uzrok pojave stresa na niskim temperaturama navode se promjene vodnog režima biljke, povećana koncentracija pojedinih kemijskih tvari, promjena enzimatskih reakcija, usporen rast i razvoj.

One predstavljaju živa bića koja cijeli život prožive na jednom mjestu. Izložene su promjenjivim uvjetima životne sredine pa se, da bi opstale, moraju dobro prilagoditi staništu i različitim ekološkim činiteljima. Prilagodba biljaka prirodan je način kojim biljke reagiraju na promjene u okolišu, pa tako i na promjene klime. Različite biljne vrste pokazuju različitu senzibilnost prema niskim temperaturama.

Biljke mogu koristiti više signalnih puteva koji pokreću mehanizam otpornosti na niske temperature što rezultira njihovom prilagodbom. Prisutna su dva signalna puta kod indukcije aklimatizacije na niske temperature:

1. promjene u fluidnosti membrane
2. pad vodnog potencijala što izaziva apcisinska kiselina ABA

Do danas je otkriveno 200 proteina koji se sintetiziraju u stanici kao reakcija biljaka na niske temperature.

Drvenaste biljke u borealnom i arktičkom okruženju i visokim planinama preživjele su dugotrajnu izloženost temperaturama ispod $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ i minimalnim temperaturama ispod $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, a laboratorijska ispitivanja pokazuju da mnoge od ovih vrsta mogu preživjeti uranjanje u tekući dušik na $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Studije biokemijskim promjena koje se javljaju tijekom aklimatizacije, uključujući nedavne proteomske i metabolomske studije, otkrile su promjene u ugljikohidratima i koncentracijama kompatibilnih topivih tvari, membranskom lipidnom sastavu i proteinima, osobito dehidrinima, koji mogu imati važnu ulogu u preživljavanju drveća pri ekstremno niskim temperaturama. Razmatranje biofizičkih mehanizama membranskog stresa i naprezanja dovelo je do sljedećih hipoteza za stanične i molekularne mehanizme preživljavanja kod ekstremno niskih temperatura:

1. Promjene lipidne kompozicije stabiliziraju membrane na temperaturama iznad temperature prijelaza lipidne faze (-20 do -30°C), sprječavajući promjene faza koje rezultiraju nepovratnim ozljedama.
2. Visoke koncentracije oligosaharida promoviraju vitrifikaciju ili visoku viskoznost u citoplazmi u smrznutim dehidriranim stanicama, što bi spriječilo štetne interakcije između membrana.
3. Dehidrini vežu membrane i dalje promoviraju vitrifikaciju kako bi se spriječile interakcije između membrana.

Biljne vrste koje izvorno rastu u hladnim klimatskim uvjetima otpornije su od vrsta toplih klimatskih uvjeta, što je i za očekivati. Geografska rasprostranjenost mnogih vrsta određena je njihovom sposobnošću preživljavanja pri niskim temperaturama.

Različiti okolišni čimbenici pokazuju stresni učinak u različitom vremenskom razdoblju. Tako npr. promjena temperature postaje stresna nakon nekoliko minuta, nedostatak ili višak vode u tlu nakon nekoliko dana ili tjedana, a manjak nekih mineralnih tvari nakon nekoliko mjeseci. Odgovori na različite tipove stresa često se preklapaju pa se stoga izlaganjem jednom tipu stresa može inducirati određeni stupanj tolerancije na druge tipove stresa. odgovori na sušu, visoku koncentraciju soli u tlu, povišenu temperaturu i hladnoću povezani su s problemom raspolaganja vodom.

Strategija preživljavanja biljaka u stresnim situacijama je ta da se ne orijentira maksimalno na prinos već se dio metabolita usmjerava na restituciju, regeneraciju odnosno ojačavanje organizma. Biljka traži kompromis između prinosa i preživljavanja.

4. LITERATURA

1. Denfer, D.; H. Ziegler, 1988: Botanika (morfologija i fiziologija). Školska knjiga. Zagreb.
2. Dubravec, K. D., Regula, I., 1995: Fiziologija bilja. Školska knjiga, Zagreb
3. Franjić, J.; Škvorc, Ž.; Trinajstić, I.; 2008: Anatomija bilja, interna skripta. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 4. Zagreb
4. Larcher, W., 2003: Physiological Plant Ecology, Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York
5. Öpik, H.; Rolfe, S.; 2005: The Physiology of Flowering Plants, 4th edition. Cambridge University Press, England.
6. Pevalek-Kozlina, B., 2003: Fiziologija bilja. Profil, Zagreb.
7. Pflug E, E.; Brüggemann, W.; 2012: Frost-acclimation of photosynthesis in overwintering Mediterranean holm Oak, grown in Central Europe. International Journal of Plant Biology 3:e1.
8. Poljak, M., 2002: Fiziologija bilja, interna skripta. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
9. Škvorc, Ž.; Sever, K.; Franjić, J.; 2013: Fiziologija šumskog drveća, interna skripta. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 88-92. Zagreb.
10. Trinajstić, I., 1978: Anatomija bilja, interna skripta. Šumarski fakultet, 1-64. Zagreb.
11. Strimbeck, R. G.; Schaberg, G. P.; Fossdal, G. C.; Schröder, P. W.; Kjellsen, D. T.; 2015: Extreme low temperature tolerance in woody plants. Front Plant Sci. 6:884.
12. Vitasse, Y.; Lenz, A.; Körner, C.; 2014: The interaction between freezing tolerance and phenology in temperate deciduous trees. Front Plant Sci. 5:541.

INTERNETSKE STRANICE

13. Službena stranica Canna:
 - http://www.cannagardening.ca/root_zone_temperature_and_plant_health
14. Službena stranica Leksikografskog Zavoda Miroslava Krleža:
 - <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=21680>
15. Wikipedia
 - <https://hr.wikipedia.org/wiki/Transpiracija>